

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Saat ini penyakit infeksi merupakan penyebab kematian yang tertinggi di Indonesia (Hatta, 2005). Beberapa infeksi disebabkan oleh bakteri yang secara umum dianggap patogen tidak menampilkan gejala atau asimtomatik. Penyakit terjadi jika bakteri atau reaksi imunologi yang ditimbulkannya menyebabkan suatu bahaya bagi seseorang. Bakteri yang sering menyebabkan infeksi adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Jawetz *et al*, 2005).

Bakteri *E.coli* termasuk kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare. Penyakit-penyakit lain yang disebabkan oleh *E. coli* adalah menginfeksi saluran kemih mulai dari sistitis sampai pielonefritis, pneumonia, meningitis pada bayi dan menginfeksi luka terutama di dalam abdomen. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) merupakan bakteri Gram positif. *Staphylococcus aureus* bersifat koagulasi positif, yang membedakannya dari spesies lain. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses (Jawetz *et al.*, 2005).

Biasanya untuk mengobati infeksi ini dokter langsung meresepkan antibiotik. Walaupun antibiotik ini banyak menunjukkan keberhasilan, tapi di beberapa kasus pada beberapa orang justru menimbulkan efek samping tidak baik berupa gangguan dermatologis (reaksi alergi bagi orang yang hipersensitif)

ataupun gangguan saluran pencernaan. Pemberian antibiotik dari golongan yang sama secara terus menerus juga akan membuat bakteri menjadi resisten sehingga antibiotik tersebut tidak menyembuhkan tapi membuat infeksi bertambah parah (Tjay dan Rahardja, 2007).

Sekarang ini masyarakat mempunyai kecenderungan untuk *back to nature* dalam mengobati penyakit termasuk penyakit infeksi. Salah satunya dengan penggunaan obat tradisional sebagai alternatif untuk mendapatkan pengobatan yang efektif dengan resiko efek samping yang relatif kecil (Pramono, 2003). Hal ini mendorong para peneliti untuk mendapatkan obat-obat baru yang lebih aman dan lebih efektif, terutama yang berasal dari bahan alam. Usaha ini juga didukung oleh keanekaragaman tumbuhan yang ada di Indonesia. Akan tetapi hanya sekitar 350 spesies tumbuhan yang benar-benar telah digunakan sebagai bahan baku obat oleh masyarakat serta industri jamu dan obat Indonesia (Muhlisah, 2000).

Tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat salah satunya adalah buah stroberi. Buah stroberi mempunyai rasa khas manis dan menyegarkan. Selain itu buah stroberi mengandung flavanoid yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (Gunawan *et al.*, 2010). Hal ini telah dibuktikan oleh Anggani (2009) dengan diperoleh hasil ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) memenuhi parameter standar mutu ekstrak dengan kadar flavonoid total sebesar $1,9003 \pm 1,5449 \mu\text{g/mL}$ dan memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *E. coli* dengan konsentrasi efektif ekstrak 513 ppm dan terhadap bakteri *S. dysenteriae* pada konsentrasi efektif ekstrak 980,842 ppm.

Berdasarkan paparan hasil penelitian sebelumnya mengenai aktivitas buah stroberi ditemukan senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri dan penelitian tersebut belum dilanjutkan ke tahap fraksinasi. Oleh karena itu perlu diteliti fraksi polar ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) sehingga dapat menambah data ilmiah tentang pengobatan penyakit infeksi dengan bahan alam yang saat ini masih berdasarkan data empiris.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah fraksi polar ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* multiresisten antibiotik dan berapa kadar hambat minimal?
2. Golongan senyawa kimia apa yang terkandung dalam polar ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*)?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan permasalahan maka tujuan pada penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi polar ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* multiresisten antibiotik dan mengetahui kadar hambat minimal.

2. Mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi polar ekstrak etanol buah stroberi (*Fragaria x ananassa*).

D. Tinjauan Pustaka

1. Buah Stroberi (*Fragaria x ananassa*)

Stroberi merupakan tanaman buah berupa herba yang ditemukan pertama kali di Chili. Salah satu spesies tanaman stroberi yaitu *Fragaria chiloensis* L dan *Fragaria x ananassa* menyebar ke berbagai negara Amerika, Eropa dan Asia (Rukmana, 1998).

a. Klasifikasi

Tanaman stroberi mempunyai klasifikasi sebagai berikut:

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Rosales
Suku	: Rosaceae
Marga	: <i>Fragaria</i>
Spesies	: <i>Fragaria x ananassa</i> Duchesne (Cronquist, 1981)

b. Morfologi

1) Akar (*Radix*)

Tanaman stroberi berakar tunggang yang tumbuh memanjang menyebar ke segala arah dan berukuran besar. Akar tanaman dapat mencapai panjang 100 cm, tetapi biasanya hanya dapat menembus lapisan tanah atas sedalam 15 cm – 45 cm (Rukmana, 1998).

2) Batang (*Caulis*)

Batang tanaman stroberi beruas-ruas pendek, berbuku-buku serta mengandung banyak air. Batang tertutup oleh pelepah daun, sehingga tampak seperti rumpun tanpa batang (Rukmana, 1998).

3) Daun (*Folium*)

Daun tersusun pada tangkai yang berukuran agak panjang. Tangkai daun berbentuk bulat serta permukaannya ditumbuhi oleh bulu-bulu halus. Helai daun bersusun tiga (*trifoliata*), bagian tepi daun bergerigi, berwarna hijau, dan berstruktur tipis (Rukmana, 1998).

4) Bunga (*Flos*)

Tanaman stroberi berbunga sempurna (*hermaphrodite*). Bunga tersusun dalam malai yang berukuran panjang, terletak pada ujung tanaman (Rukmana, 1998).

5) Buah (*Fructus*)

Umumnya buah stroberi berbentuk kerucut hingga bulat. Buah yang tampak secara visual disebut buah semu yang berasal dari dasar bunga (*receptaculum*) kemudian berubah bentuk menjadi gumpalan daging buah (Rukmana, 1998).

c. Kandungan Kimia

Buah stroberi mengandung *hydrolyzable tannins* [*ellagitannins* (*ETs*), *gallotannins* (*GTs*), dan *ellagic acid* (*EA*)], *anthocyanins*, *flavonols*, *hydroxycinnamic acid derivatives* dan estersnya, dan *flavanols* (*catechins*). Flavonol buah stroberi mengandung kuersetin rutinosida, kuersetin glukosida,

kuersetin glukuronida, dan kaempferol glukuronida. Antosianin buah stroberi mengandung pelargonidin diglukosida, sianidin glukosida, pelargonidin glukosida, dan pelargonidin rutinosida (Seeram *et al.*, 2006). Berdasarkan hasil isolasi, ekstrak stroberi mengandung 10 komponen fenolik yaitu *Cyanidin-3-glucoside*, *pelargonidin*, *pelargonidin-3-glucoside*, *pelargonidin-3-rutinoside*, *kaempferol*, *quersetin*, *kaempferol-3-(6'-coumaroyl)glucoside*, *3,4,5-trihydroxyphenyl-acrylic acid*, *glucose ester of (E)-p-coumaric acid*, dan *ellagic acid* (Zhang *et al.*, 2008).

d. Kegunaan

Buah stroberi mengandung *ellagic acid* yang ternyata berperan sebagai antikarsinogenik dan antimutagen. *Ellagic acid* adalah suatu persenyawaan fenol yang berpotensi sebagai penghambat kanker akibat dari persenyawaan-persenyawaan kimia berbahaya (Budiman dan Saraswati, 2005). Selain itu juga kandungan fenolik dalam buah stroberi memiliki aktivitas antioksidan dan antiproliferatif dengan menghambat pertumbuhan sel tumor pada kolon, prostat, dan oral secara in vitro (Zhang *et al.*, 2008). Hasil infusa buah stroberi juga telah diteliti memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro (Gunawan *et al.*, 2010).

2. Metode Penyarian

Penyarian merupakan kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang dicari, mengandung zat aktif yang dapat larut dan zat yang tidak larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Faktor yang mempengaruhi kecepatan penyarian adalah kecepatan

difusi zat yang larut melalui lapisan-lapisan batas antara cairan penyari dengan bahan yang mengandung zat tersebut (Anonim, 1986).

Biasanya metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih metode ekstraksi (Ansel, 2005). Pemilihan larutan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Larutan penyari yang baik harus memenuhi kriteria yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara kimia dan fisika, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Anonim, 1986).

Penggunaan air sebagai penyari kurang menguntungkan, karena disamping zat aktif juga zat lain yang tidak diperlukan ikut tersari. Air merupakan tempat tumbuh bagi kuman dan kapang, serta dapat melarutkan enzim. Enzim yang terlarut dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatis, yang mengakibatkan penurunan mutu, disamping itu juga akan mempercepat proses hidrolisis. Sedangkan etanol sebagai penyari dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar, dan klorofil. Lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Dengan demikian zat pengganggu yang larut hanya terbatas. Cara penyarian dapat dibedakan menjadi infundasi, maserasi, perkolasi, dan sokhletasi (Anonim, 1986).

Istilah maserasi berasal dari bahasa Latin *macerare*, yang artinya merendam. Maserasi merupakan proses penyarian dengan cara serbuk direndam dalam pelarut sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Ansel, 2005). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Anonim, 1986).

Lamanya waktu maserasi berbeda-beda tergantung pada sifat atau ciri campuran serbuk dan pelarut. Lamanya harus cukup supaya dapat memasuki rongga dari struktur serbuk dan melarutkan semua zat yang mudah larut. Lamanya maserasi bisa memerlukan waktu beberapa jam atau beberapa hari untuk ekstraksi yang optimum. Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15°C-20°C dalam waktu selama 3 hari sampai bahan-bahan yang larut akan melarut (Ansel, 2005).

3. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan komponen-komponen dalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah Kromatografi Cair Vakum (KCV). Prinsip dasar kromatografi cair vakum ini adalah pemisahan secara adsorpsi yang dipercepat dengan bantuan pompa vakum (Hostettmann *et al.*, 1995).

Metode yang digunakan dalam proses fraksinasi ini adalah menggunakan Kromatografi Cair Vakum (KCV). Pada tahun 1977 Kromatografi Cair Vakum

(KCV) dipublikasikan untuk mengisolasi diteroena sembrenoid dari terumbu karang lunak Australia. Kromatografi dikemas kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kemasan rapat yang maksimal, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan penjerap lalu divakumkan lagi. Kolom dihisap sampai kering dan siap dipakai. Cuplikan dilarutkan dalam pelarut yang cocok, mulai pelarut yang kepolarannya rendah lalu kepolarannya ditingkatkan perlahan-lahan, kolom dihisap jangan sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi (Hostettmann *et al.*, 1995).

Kelebihan kromatografi cair vakum dibandingkan dengan kromatografi konvensional adalah dapat dilakukan dengan jumlah ekstrak dalam skala besar dan dalam waktu yang singkat. Sedangkan kekurangan metode kromatografi cair vakum terletak pada jenis fase gerak yang digunakan. Pada metode ini, perlu pemilihan pelarut yang sesuai untuk mencegah terjadinya penguapan pelarut selama proses fraksinasi berlangsung (Hostettmann *et al.*, 1995).

4. Bakteri

Bakteri termasuk dalam golongan prokariot yang mempunyai DNA sirkuler dengan panjang sekitar 1 mm. Struktur bakteri mirip dengan sel tumbuhan atau hewan, terdiri dari sitoplasma, nukleus, dan dinding sel. Bakteri dikelompokkan ke dalam 4 kategori utama yang didasarkan pada karakter dinding sel. Kategori tersebut adalah eubakteria Gram negatif yang memiliki dinding sel, eubakteria Gram positif yang memiliki dinding sel, eubakteria yang tidak memiliki dinding sel, dan archaebakteria (Jawetz *et al.*, 2005).

Bakteri hidup tersebar di alam, antara lain di tanah, udara, air, dan makanan. Secara garis besar bakteri dapat dibedakan atas bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif yaitu bakteri yang pada pengecatan Gram tetap mengikat warna cat pertama (Gram A) karena tahan terhadap alkohol dan tidak mengikat warna cat yang kedua (warna kontras) sehingga bakteri akan berwarna ungu. Bakteri gram negatif yaitu bakteri yang pada pengecatan Gram warna cat yang pertama (Gram A) dilunturkan karena tidak tahan terhadap alkohol dan mengikat warna cat yang kedua (warna kontras) sehingga bakteri berwarna merah (Pelczar dan Chan, 1988). Contoh dari bakteri Gram positif adalah *Staphylococcus*, *Pneumococcus*, *Corynebacterium diphteriae* dan *Streptococcus*, sedangkan bakteri Gram negatif contohnya adalah *E. Coli*, *Shigella*, *Neisseria*, *Veillonella*, *Salmonella*, dan *Kleibsiella* (Jawetz *et al.*, 2005).

Spesies bakteri yang diteliti adalah *Escherichia coli* (Bakteri Gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (Bakteri Gram positif)

a. *Escherichia coli*

Klasifikasi dari *Escherichia coli* sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Species	: <i>E. coli</i> (Todar's, 2004)

Escherichia coli merupakan kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang baik itu motil dengan *peritrichous flagella* atau non motil dan tumbuh dengan baik pada agar *Mc Conkey* (Jawetz *et al.*, 2005). Bakteri ini termasuk kuman oportunistik yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak dan *travelers diarrhea*, seperti juga kemampuannya menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh yang lain di luar usus. Bakteri ini tumbuh baik pada hampir semua media yang biasa dipakai di laboratorium mikrobiologi pada media yang dipergunakan untuk isolasi kuman enterik, sebagian besar strain *E. coli* tumbuh sebagai koloni yang meragi laktosa (Jawetz *et al.*, 2001). Bakteri ini pada umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih ada di dalam usus, dapat menyebabkan penyakit bila telah mencapai jaringan di luar traktus intestinalis seperti saluran kencing, paru, saluran empedu, peritoneum, dan saluran otak (Jawetz *et al.*, 2001).

b. *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi dari *Staphylococcus aureus* sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria	
Phylum	: Firmicutes	
Class	: Bacilli	
Ordo	: Bacillales	
Family	: Staphylococcaceae	
Genus	: Staphylococcus	
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>	(Todar's, 2004)

Staphylococcus berasal dari perkataan *staphyle* yang berarti kelompok dengan diameter 1 μm yang tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur. *Staphylococcus* bersifat non motil dan tidak membentuk spora. Kuman ini sering ditemukan sebagai kuman flora normal pada kulit dan selaput lendir pada manusia. *Staphylococcus* dapat menjadi penyebab infeksi baik pada manusia maupun pada hewan. Beberapa jenis kuman ini dapat membuat enterotoksin yang dapat menyebabkan keracunan makanan (Jawetz *et al.*, 2005).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang relatif polar dibanding dinding sel bakteri Gram negatif sehingga lebih mudah ditembus senyawa antimikroba dibanding kelompok Gram negatif (Hertiani *et al.*, 2003). *Staphylococcus aureus* bersifat koagulasi positif, yang membedakannya dari spesies lain. Bakteri ini dapat menyebabkan pneumonia, meningitis, empiema, endokarditis atau sepsis dengan supurasi di tiap organ (Jawetz *et al.*, 2005).

Staphylococcus aureus mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteriologi, dalam keadaan aerobik atau mikroaerobik. *Staphylococcus* tumbuh paling cepat pada suhu kamar 37°C, paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20-35°C). Koloni pada media yang padat berbentuk bulat, lembut, dan mengkilat, biasanya membentuk koloni abu-abu hingga kuning emas (Jawetz *et al.*, 2005).

5. Antibakteri

Prinsip terapi antibakteri adalah harus dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri patogen tetapi tanpa membahayakan manusia (Batubara,

2008). Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh bakteri dikenal sebagai bakterisid. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat dan membunuh bakteri, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisid bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM (Setiabudy, 2007).

Beberapa istilah yang digunakan untuk menjelaskan proses pembasmian bakteri yang dikemukakan oleh Pelczar dan Chan (1988) adalah

- a. Germisid adalah bahan yang dipakai untuk membasmi mikroorganisme dengan mematikan sel-sel vegetatif, tetapi tidak selalu mematikan bentuk sporanya.
- b. Bakterisid adalah bahan yang dipakai untuk mematikan bentuk-bentuk vegetatif bakteri.
- c. Bakteriostatik adalah suatu bahan yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri tanpa memamatkannya.
- d. Antiseptik adalah suatu bahan yang menghambat atau membunuh mikroorganisme dengan mencegah pertumbuhan atau menghambat aktivitas metabolisme, digunakan pada jaringan hidup.
- e. Desinfektan adalah bahan yang dipakai untuk membasmi bakteri dan mikroorganisme patogen tapi belum tentu beserta sporanya, digunakan pada benda mati.

Mekanisme kerja antibakteri adalah sebagai berikut :

a. Perusakan dinding sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku, disebut dinding sel yang dapat mempertahankan bentuk bakteri dan melindungi membran protoplasma dibawahnya (Jawetz *et al.*, 2005). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Antibiotik yang bekerja dengan mekanisme ini diantaranya adalah penisilin (Pelczar dan Chan, 1988).

b. Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membran memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel. Polimiksin bekerja dengan merusak struktur dinding sel dalam kemudian antibiotik tersebut bergabung dengan membran sel sehingga menyebabkan disorientasi komponen-komponen lipoprotein serta mencegah berfungsinya membran sebagai perintang osmotik (Pelczar dan Chan, 1988).

c. Perubahan molekul protein dan asam nukleat

Hidup suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam-asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Salah satu

antibakteri yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel adalah fenolat dan persenyawaan fenolat (Pelczar dan Chan, 1988).

d. Penghambatan kerja enzim

Setiap enzim yang ada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel. Sulfonamid merupakan salah satu contoh antibiotik yang bekerja dengan cara penghambatan kerja enzim (Pelczar dan Chan, 1988).

e. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA, dan protein memegang peranan amat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Tetrasiklin merupakan salah satu antibiotik yang dapat menghambat sintesis protein (Pelczar dan Chan, 1988).

6. Resistensi

Resisten adalah kemampuan suatu bakteri untuk tidak terbunuh atau terhambat pertumbuhannya oleh suatu antibakteri. Resistensi dapat terjadi secara alamiah atau berkembang sehingga bakteri yang dulunya peka berubah menjadi resisten atau paling tidak untuk membunuhnya memerlukan dosis yang lebih tinggi. Beberapa mekanisme resistensi adalah mikroorganisme menghasilkan enzim dan merusak obat yang aktif, mengubah target obat, dan mengubah permeabilitas terhadap obat (Batubara, 2008). Resistensi dibagi dalam kelompok resistensi genetik dan resistensi non genetik.

a. Resistensi non genetik

Bakteri dalam keadaan istirahat (inaktivitas metabolik) biasanya tidak dipengaruhi oleh antimikroba. Bila berubah menjadi aktif kembali, mikroba kembali bersifat sensitif terhadap antimikroba. Keadaan ini dikenal sebagai resistensi non genetik. Misalnya, organisme yang peka terhadap penisilin mengubah bentuk menjadi *L-form* yang dinding selnya rusak, akibat pemberian penisilin. Hilangnya dinding sel, berakibat resisten terhadap obat penghambat dinding sel (Jawetz *et al.*, 2005).

b. Resistensi genetik

Terjadinya resistensi kuman terhadap antibiotik umumnya terjadi karena perubahan genetik. Perubahan genetik bisa terjadi secara kromosomal dan ekstrakromosomal. Resistensi kromosomal terjadi akibat mutasi spontan pada lokus yang mengendalikan kepekaan terhadap obat antimikroba yang diberikan. Pada resistensi ekstrakromosomal (resistensi dipindahkan) bakteri sering mengandung unsur-unsur genetik ekstrakromosomal yang dinamakan plasmid. Bahan genetik dan plasmid dapat dipindahkan melalui mekanisme transduksi, transformasi, dan translokasi DNA (Jawetz *et al.*, 2005).

c. Resistensi Silang

Mikroorganisme yang resisten terhadap suatu obat tertentu dapat pula resisten terhadap obat-obat lain yang memiliki mekanisme kerja yang sama. Kemiripan antar antimikroba seperti kedekatan struktur kimia atau yang mempunyai kesamaan mekanisme kerja. Pada obat golongan tertentu, kesamaan terletak pada inti aktif kimiawi (misalnya tetrasiklin) bisa diduga akan sering terjadi resistensi silang (Jawetz *et al.*, 2005).

7. Uji Aktivitas Antibakteri

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yakni dilusi dan difusi. Penting sekali untuk menggunakan metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba (Jawetz *et al.*, 2005).

a) Metode Difusi

Metode difusi yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram dipergunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standardisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik. Penggunaan cakram tunggal pada setiap antibiotik dengan standardisasi yang baik, bisa menentukan apakah bakteri peka atau resisten dengan cara membandingkan zona hambatan standar bagi obat yang sama (Jawetz *et al.*, 2005).

b) Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir metode ini, dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agak memakan

waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis, dan jarang dipakai, yakni menggunakan *microdilution plate*. Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.*, 2005).

Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi antimikroba ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi antimikroba dicampur dengan media agar kemudian ditanami bakteri. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan disebut Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) (Setiabudy dkk., 2007).

8. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis adalah metode pemisahan senyawa menggunakan fase diam berupa serbuk halus yang dilapiskan secara merata pada lempeng kaca, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan berupa bercak atau pita dan pemisahan terjadi selama perambatan (pengembangan). Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan atau dideteksi. Untuk campuran yang tidak diketahui lapisan pemisah dan sistem larutan pengembangan harus dipilih dengan tepat karena keduanya bekerja sama untuk mencapai pemisahan (Stahl, 1985).

Fase diam dalam KLT merupakan suatu lapisan dibuat dari bahan berbutir halus yang ditempatkan pada suatu lempengan. Partikel yang butirannya kasar tidak akan memberikan hasil yang memuaskan. Fase diam yang umum digunakan

adalah silika gel GF₂₅₄, alumunium oksida, kieselgur, selulosa, poliamida. Silika gel yang digunakan kebanyakan diberi pengikat yang dimaksudkan untuk memberikan kekuatan pada lapisan, dan menambah adesi pada gelas penyokong. Pengikat yang digunakan kebanyakan kalsium sulfat. Biasanya dalam perdagangan, silika gel telah diberi pengikat sehingga tidak perlu mencampur sendiri (Sastrohamidjojo, 2002).

Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut (Stahl, 1985). Pemilihan fase gerak sebaiknya menggunakan campuran pelarut organik yang mempunyai polaritas serendah mungkin. Salah satu alasannya adalah untuk mengurangi serapan setiap komponen dari campuran pelarut. Jika komponen mempunyai sifat polar tinggi (terutama air) dalam campuran akan merubah sistem menjadi sistem partisi. Campuran yang baik akan memberikan fase gerak yang mempunyai kekuatan bergerak sedang, tetapi sebaiknya dicegah sejauh mungkin mencampur lebih dua komponen, terutama karena campuran yang lebih kompleks cepat mengalami perubahan fase terhadap perubahan suhu (Sastrohamidjojo, 2002).

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan angka R_f atau hR_f.

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan dari titik awal}} \quad (1)$$

Angka R_f berjarak antara 0,00 dan 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal. hR_f ialah angka R_f dikalikan faktor 100 (h), menghasilkan nilai berjangka 0 sampai 100 (Stahl, 1985).

E. Landasan Teori

Buah stroberi memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *E. coli* dengan konsentrasi efektif ekstrak 513 ppm dan terhadap bakteri *S. dysenteriae* pada konsentrasi efektif ekstrak 980,842 ppm (Anggani, 2009). Penelitian lain menyebutkan bahwa infus buah stroberi mempunyai efek antibakteri terhadap mutan streptokokus dengan area penghambatan 0,30 mm, MIC 45%/ml, MBC 90%/ml (Gunawan dkk., 2009). Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Zhang (2008) menyebutkan bahwa ekstrak stroberi mengandung 10 komponen fenolik yaitu *Cyanidin-3-glucoside*, *pelargonidin*, *pelargonidin-3-glucoside*, *pelargonidin-3-rutinoside*, *kaempferol*, *quersetin*, *kaempferol-3-(6'-coumaroyl)glucoside*, *3,4,5-trihydroxyphenyl-acrylic acid*, *glucose ester of (E)-p-coumaric acid*, dan *ellagic acid*. Kuersetin mempunyai aktivitas penghambatan bakteri dengan KHM 0,35% terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan KHM 0,25% terhadap bakteri *Salmonella enteritidis* (Arima, 2002). Kuersetin juga mempunyai KHM 1% terhadap bakteri *Bacillus subtilis* (Zen, 2007). Buah stroberi mengandung senyawa kuersetin yang telah diteliti mempunyai aktivitas antibakteri.

F. Hipotesis

Fraksi polar ekstrak etanol buah stroberi mengandung senyawa yang aktif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* multiresisten antibiotik.